

# Biochemical and clinical factors in rhegmatogenous retinal detachment

Citation for published version (APA):

Diederer, R. M. H. (2007). *Biochemical and clinical factors in rhegmatogenous retinal detachment*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Universiteit Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20070405rd>

## Document status and date:

Published: 01/01/2007

## DOI:

[10.26481/dis.20070405rd](https://doi.org/10.26481/dis.20070405rd)

## Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

## Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

## General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

## SUMMARY

In this thesis we set out to investigate a number of clinical and biochemical factors that have been implicated in the visual and anatomical outcome after rhegmatogenous retinal detachment (RRD). The questions and hypotheses we addressed in this thesis are outlined in chapter 1.

In chapter 2, we determined the effect of duration of macular detachment (DMD) on post operative visual acuity (VA) in patients with *macula-off* RRD. In a retrospective, observational case series we studied 202 consecutive patients (202 eyes) with primary, uncomplicated, *macula-off* retinal detachment, a pre-operative VA  $\leq 10/100$ , a precise history of when macular function was lost, successful re-attachment surgery and a minimal follow up of 3 months. The cumulative mean of the best corrected postoperative VA (LogMAR) as a function of DMD shows a rapid worsening when DMD exceeds 6 days. Our results indicate that the scleral buckling procedure should preferably be done within 7 days of DMD.

In chapter 3, we evaluated risk factors associated with re-detachment and/or a worse visual outcome in patients with RRD without macular involvement following scleral buckling surgery. In a retrospective, observational case series we studied 253 consecutive eyes (248 patients) with primary, *macula-on* retinal detachment, a precise history of when visual field loss had occurred and a minimal follow up of 6 months. In RRD without macular involvement, a re-detachment and the presence of PVR are indicators for a low visual outcome after retinal detachment surgery. A longer duration of visual field loss before the scleral buckling procedure increases the chance of a retinal re-detachment after surgery.

In chapter 4, a possible role for glutamate and other amino acid neurotransmitters during clinical RRD was studied. The study group consisted of 114 vitreous samples of patients with a RRD. The control group included vitreous samples of 52 eyes with an idiopathic macular hole or idiopathic epiretinal membrane and 10 eyes with a traction retinal detachment due to proliferative diabetic retinopathy. Vitreous concentrations of 5 amino acid neurotransmitters were determined by high-pressure liquid chromatography. RRD was associated with a significantly increased vitreous glutamate concentration. Taurine levels were also increased in RRD, whereas no significant difference could be observed for glycine, aspartate and GABA levels when comparing RRD with controls. A correlation was found between increased vitreous glutamate and a lower pre-operative visual acuity. Using visual acuity as a functional parameter in this study, we could not demonstrate a correlation between vitreous glutamate, or any of the other tested amino acid neurotransmitters and visual outcome.

In chapter 5, we hypothesized that in RRD, the production of NO pathway metabolites might be upregulated. Using high-pressure liquid chromatography citrulline, arginine and nitrite were measured in vitreous fluid of 93 eyes with RRD, 9 eyes with a traction retinal detachment due to proliferative diabetic retinopathy, and in 49 control samples of vitreous fluid from eyes without retinal detachment. The mean vitreous concentrations of citrulline and arginine were significantly increased in eyes with RRD or in eyes with a traction retinal detachment as compared to control eyes. The mean concentration of nitrite was elevated in vitreous fluid of RRD patients as compared to controls although this was not statistically significant.

In chapter 6, we quantified cGMP synthesis by RPE cells and investigated the role of soluble and particulate guanylyl cyclase in its production. Cyclic GMP expression was evaluated in the presence of a non-selective phosphodiesterase inhibitor. Stimulation of the particulate guanylyl cyclase in RPE cells with ANP resulted in high intra and extracellular cGMP levels. Stimulation of the soluble guanylyl cyclase by SNP resulted in a slight elevation of cGMP levels compared to controls. These experiments show that cultured human RPE cells are capable of producing cGMP and that most cGMP is generated following stimulation of the particulate guanylyl cyclase pathway.

In chapter 7, we studied cGMP synthesis after inhibition of NOS, inhibition of soluble guanylyl cyclase or inhibition of particulate guanylyl cyclase. Furthermore, we showed NADPH-diaphorase activity and the presence of  $\beta$ -1 and  $\alpha$ -2 subunits of soluble guanylyl cyclase, inducible NOS, and ANP in cultured human RPE cells. The results show an important role for ANP in the cGMP synthesis in RPE cells and indicate that there are interacting signaling pathways using cGMP as a second messenger in cultured human RPE cells. The presence of inducible NOS and the ongoing cGMP synthesis by soluble guanylyl cyclase in RPE cells is causally linked and might be part of a regulatory cGMP dependent mechanism integrating the effects of ANP and NO.

In chapter 8, we investigated which PDE's are involved in regulating cGMP breakdown in RPE cells. In the absence of PDE inhibitors cGMP levels in cultured RPE cells are very low. In the presence of Bay60-7550 as a selective PDE2 inhibitor, sildenafil as a selective PDE5 inhibitor or Sch51866 as a selective PDE9 inhibitor the cGMP content strongly increased after stimulation of the particulate guanylyl cyclase. Furthermore messenger RNA of PDE2, PDE5 and PDE9 was detected in all cultured human RPE cells and in rat RPE cell layers in vivo.

In chapter 9, we studied cGMP expression in pig retinas and pig vitreous fluid after creating an experimental retinal detachment. We could detect

cGMP in these vitreous samples and showed a significantly lower vitreous cGMP level in pig eyes after retinal detachment compared to the level of cGMP in healthy pig eyes. Comparing the existence of cGMP immunoreactivity between the retinas with and without experimental retinal detachment only shows a difference after stimulation of the particulate guanylyl cyclase with ANP. Under this condition, cGMP could be detected in the outer nuclear layer of the detached retina, where this was not the case in the normal retina.

In chapter 10 we discuss the findings presented in the thesis and point out directions for further research in this area.

## SAMENVATTING

In Hoofdstuk 2 heb ik het effect beschreven van de duur dat de macula los ligt op de post-operatieve visus bij patiënten met een netvliesloslating waarbij de macula betrokken was. In een retrospectieve studie hebben we 202 patiënten bestudeerd met een primaire, ongecompliceerde netvliesloslating met macula-af, een pre-operatieve visus  $\leq 10/100$ , een gedetailleerde anamnese over wanneer de visus grotendeels weg viel, een succesvolle netvlies operatie en een minimale follow-up van 3 maanden. Het cumulatieve gemiddelde van de best gecorrigeerde post-operatieve visus als functie van de duur dat de macula los ligt, laat een verslechtering zien wanneer de duur 6 dagen overschrijdt. Onze resultaten indiceren dat de cerclage plombe operatie het beste gedaan kan worden binnen 7 dagen na het ontstaan van de macula loslating.

In Hoofdstuk 3 hebben we de risicofactoren geëvalueerd die geassocieerd zijn met een recidief loslating en/of een slechte visus na een cerclage plombe operatie bij patiënten met een netvliesloslating zonder betrokkenheid van de macula. In een retrospectieve studie hebben we 253 ogen (248 patiënten) bestudeerd met een primaire, ongecompliceerde netvliesloslating met macula-aan, een pre-operatieve visus  $\geq 80/100$ , een gedetailleerde anamnese en een minimale follow-up van 6 maanden. Bij een netvliesloslating zonder betrokkenheid van de macula blijken een recidief en de pre-operatieve aanwezigheid van PVR indicatoren voor een slechte visuele prognose na de operatie. Het langer bestaan van het gezichtsveldverlies voor de operatie verhoogt de kans op een recidief loslating van de retina post-operatief.

In Hoofdstuk 4 hebben we de concentraties van glutamaat en andere aminozuur-neurotransmitters bestudeerd in glasvocht van ogen met een netvliesloslating. De studie groep bestond uit 114 glasvochtmonsters van patiënten met een netvliesloslating. De controle groep bestond uit 52 glasvochtmonsters van ogen met een macula gat of macula-pucker en 10 ogen met een tractie ablatio ten gevolge van proliferatieve diabetische retinopathie. De concentraties van 5 aminozuren in het glasvocht werden bepaald met behulp van high-pressure liquid chromatography (HPLC). Een netvliesloslating bleek geassocieerd met een significant hogere concentratie glutamaat in het glasvocht. Ook de concentratie van taurine was verhoogd. Bij glycine, asparaat en GABA werden geen verhoogde concentraties gevonden. Ook vonden we een correlatie tussen een verhoogde concentratie glutamaat in het glasvocht en een lagere pre-operatieve visus. We konden echter geen correlatie aantonen tussen de concentratie glutamaat in het glasvocht en de visus na de cerclage plombe operatie.

Hoofdstuk 5 beschrijft de studie die ik heb uitgevoerd naar de productie van NO pathway metaboliëten in glasvocht van patiënten met een netvlieslosla-

ting. Met behulp van HPLC werden de concentraties van citrulline, arginine and nitriet gemeten in glasvocht van 93 ogen met een netvliesloslating, 10 ogen met een tractie ablatio ten gevolge van proliferatieve diabetische retinopathie en in 49 controle monsters van ogen zonder netvliesloslating. De gemiddelde concentratie van citrulline en arginine was significant hoger in ogen met een netvliesloslating of een tractie ablatio dan de concentratie in de controle monsters. De gemiddelde concentratie nitriet was verhoogd in glasvocht van patiënten met een netvliesloslating maar deze verhoging was niet significant.

In Hoofdstuk 6 hebben we de cGMP productie door RPE cellen bepaald, evenals de rol van de oplosbare en membraan gebonden cyclases hierin. De cGMP productie werd bepaald in de aanwezigheid van een niet specifieke PDE remmer. Stimulatie van het membraan gebonden cyclase (pGC) met ANP resulteerde in hoge intra- en extracellulaire cGMP waarden. Stimulatie van het oplosbare cyclase (sGC) met SNP resulteerde in licht verhoogde cGMP waarden ten opzichte van de controle situatie zonder SNP. Deze experimenten laten zien dat humane RPE cellen in staat zijn cGMP te produceren en dat dit vooral gebeurt na stimulatie van pGC.

In Hoofdstuk 7 hebben we de cGMP productie bestudeerd in RPE cellen na remming van NOS, sGC of pGC. Verder hebben we NADPH-diaphorase activiteit en de aanwezigheid van de  $\beta$ -1 en  $\alpha$ -2 subunits van sGC, iNOS en ANP aangetoond. De resultaten onderstrepen de rol van ANP in de cGMP productie en laten zien dat er twee autocriene wegen zijn die de cGMP synthese aansturen in gekweekte humane RPE cellen. De aanwezigheid van iNOS en de continue cGMP productie door sGC in RPE cellen is met elkaar verbonden en zou een onderdeel kunnen zijn van het cGMP regel mechanisme dat de effecten van ANP en NO combineert.

In Hoofdstuk 8 hebben we onderzocht welke PDE's betrokken zijn bij de afbraak van cGMP in RPE cellen. In de afwezigheid van PDE remmers is het cGMP niveau in gekweekte RPE cellen laag. In de aanwezigheid van Bay60-7550 als een selectieve PDE2 remmer, sildenafil als een selectieve PDE5 remmer of Sch51866 als een selectieve PDE9 remmer is de hoeveelheid cGMP sterk verhoogd, vooral na simultane stimulatie van pGC. Verder hebben we mRNA van PDE2, PDE5 en PDE9 aangetoond in gekweekte humane RPE cellen en RPE cellagen in vivo van de rat.

In Hoofdstuk 9 beschrijf ik onze studie naar de cGMP expressie in varkens retina's en glasvochtmonsters na het creëren van een experimentele netvliesloslating. We hebben cGMP aangetoond in de glasvocht monsters en vonden significant lagere waarden in glasvocht van varkensogen na een netvliesloslating in vergelijking met gezonde varkensogen. Wanneer we de aanwezigheid van cGMP in de retina vergelijken tussen ogen met en zonder netvlies-

loslating zien we alleen verschil na stimulatie van pGC met ANP. In deze conditie kon cGMP aangekleurd worden in de buitenste kern laag van de losse retina en niet in dezelfde laag van de normale gezonde retina.

In Hoofdstuk 10 vat ik de belangrijkste bevindingen van mijn promotie onderzoek samen en bediscussieer ik deze. Verder bespreek ik mogelijke richtingen voor toekomstig onderzoek.